учреждения «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган. Контактные телефоны: (3522) 50-64-17 – домашний телефон, (3522) 41-42-44 – рабочий телефон. E-mail: varstn@mail.ru.

УДК: 577.152:611.62:616.6:619

В.Е. Соболев

(Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины)

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ НА МОРФОЛОГИЮ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИСТИТА

Ключевые слова: экзогенный, гликозаминогликаны, морфология мочевого пузыря, цистит

Введение

Гликозаминогликановый слой на поверхности мочевого пузыря изучен у человека, крупного рогатого скота и некоторых видов животных [3,4,5,8,9]. В ряде исследований [6,7,11] установлено, что этой слой обеспечивает защиту слизистой оболочки мочевого пузыря от агрессивных компартментов мочи и тем самым предупреждает развитие в нем воспалительных реакций. Выявлен положительный терапевтический эффект применения различных лекарственных форм на основе гликозаминогликанов при лечении циститов человека и животных [10,12]. В этой связи изучение влияния гликозаминогликанов на морфологию мочевого пузыря в условиях воспалительного процесса представляет несомненный интерес.

Материалы и методы

В настоящем исследовании изучалось влияние перорального приема комплексного препарата гликозаминогликанов на морфологию мочевого пузыря в условиях экспериментального цистита. В качестве биологической модели использовались белые лабораторные крысы в возрасте 1 года. Опытные и контрольные группы формировались с соблюдением принципа пар-аналогов по полу и весовым кондициям. Животные были разделены на 3 группы по 3 особи в каждой. Вес животных перед постановкой эксперимента составил: первая группа 309±39,88 г; вторая группа 285,66±23,46 г; третья группа 305,33±29,02г.

В течение 14 дней до начала эксперимента крысы 1 и 2 групп с водой получали 12 мг комплексного препарата, содержащего сульфат хондроитина и глюкозамин. Животные 3 группы препарат не получали. В дальнейшем у крыс 1 и 2 групп воспалительный процесс мочевого пузыря вызывали путем трансабдоминального введения в полость мочевого пузыря 9% водного раствора уксусной кислоты. Раствор вводили дважды с интервалом 7 дней. С целью лучшего выявления мочевого пузыря за 15 минут до введения раствора кислоты животным 1 и 2 групп внутримышечно инъецировали 1 мг фуросемида. Животным 3 группы в мочевой пузырь вводили стерильный 0,9% раствор натрия хлорида.

Спустя 8 часов с момента начала эксперимента и далее ежедневно проводили учет клинических симптомов у крыс всех групп. Животным 1 и 2 групп продолжали давать препарат с комплексом гликозаминогликанов в указанной дозе 12 мг до завершения исследований. Через 10 дней после повторного введения раствора в мочевой пузырь крысам 3 группы в мочевой пузырь введен раствор кислоты в дозе аналогичной для крыс 1 и 2 групп. Спустя 48 часов проведена эвтаназия крыс всех групп. Проведено вскрытие брюшной полости и отбор мочевых пузырей с фиксацией их тканей в 10% нейтральном формалине для гистологического исследования. Гистологические срезы стенки мочевых пузырей крыс толщиной 5 - 7 мкм готовились на санном микротоме. От каждого мочевого пузыря получали 3 серии срезов с окраской гематоксилин-эозином, окрашиванием по Хейлу, и ШИК - реакцией.

Морфометрический анализ структур мочевого пузыря на срезах проводили с использованием Окуляр-микрометра МОВ 1-16 на микроскопе Биолам Р11.



Рис.1. Мочевой пузырь, область спаечного процесса

Объем ядер и плазмы клеток переходного эпителия мочевого пузыря вычислялся по формуле, предложенной В.В. Малашко [2]: V= ¶/6 * AB^2; где V – Объем; A – Большой диаметр клетки; B – малый диаметр клетки» ¶ = 3,14. Вычисление ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) клеток в относительных цифрах проводилось по формуле: ЯЦО= Vz-Vk/Vz [2]; где Vz – объем цитоплазмы; Vk – объем ядра клетки. Удельную площадь клеток переходного эпителия мочевого пузыря определяли методом линейного интегрирования по A. Rosival [1]. Статистическая обработка цифрового материала выполнена при помощи компьютерной программы Biostat 2007 для MS Windows XP.

Результаты исследований

При вскрытии брюшной полости у двух крыс 1 группы выявлены признаки спаечного процесса мочевого пузыря с кишечником. (Рисунок 1) Развитие подобных изменений, по-видимому, явилось следствием попадания в брюшную полость некоторого количества раствора кислоты при цистоцентезе.

Изучение обзорных гистологических срезов стенки мочевого пузыря у крыс всех групп выявило признаки, характерные для цистита. В частности, это подтверждается повышенным содержанием лейкоцитов в подслизистой основе мочевых пузырей крыс всех групп. Слизистая оболочка переходного эпителия мочевого пузыря у крыс 1 и 2 групп представлена 3-6 слоями клеток, с присутствием слизи. Слизистая оболочка мочевого пузыря крыс 3 группы разрушена, присутствует только базальный слой клеток, поверхностный слой слизи отсутствует. Клетки переходного эпителия мочевого пузыря крыс 1 группы содержат большие округлой формы ядра, отчетливо визуализируются ядрышки, кариоплазма с участками просветления. Эпителиоциты мочевого пузыря крыс 2 группы содержат гомогенное ядро без участков просветления кариоплазмы и видимых ядрышек, цитоплазма клеток интенсивно окрашивается красителями.

Гистохимическим окрашиванием срезов по Хейлу выявлено присутствие кислых мукополисахаридов в анализируемых срезах мочевого пузыря крыс 1 и 2 групп. Наиболее яркая реакция отмечается в слизистой оболочке мочевого пузыря крыс 2 группы. На срезах мочевого пузыря животных 3 группы кислые мукополисахариды присутствовали в значительно меньшей степени.

ШИК-реакция на полисахариды в сре-

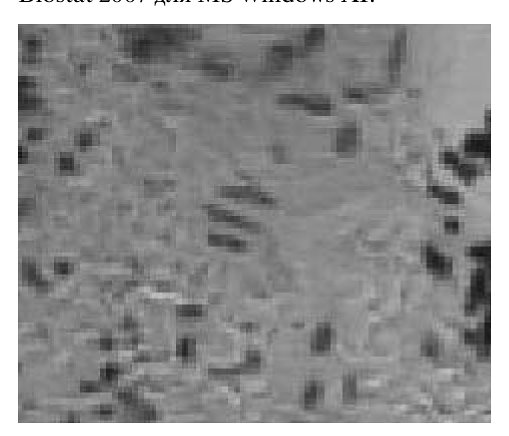


Рис. 2. Ок.10; Об.10. Окраска по Хейлу. Группа 1. Слизистая мочевого пузыря

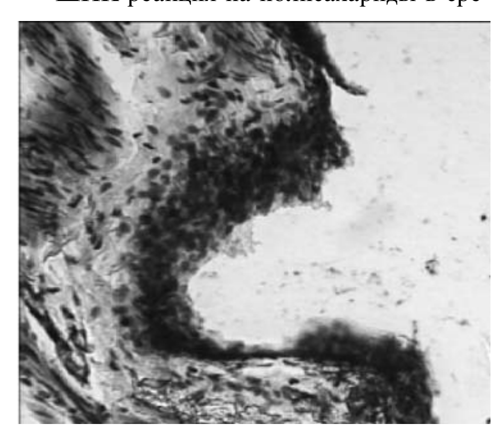


Рис. 3. Ок.10; Об.10. Окраска по Хейлу. Группа 2 Слизистая мочевого пузыря

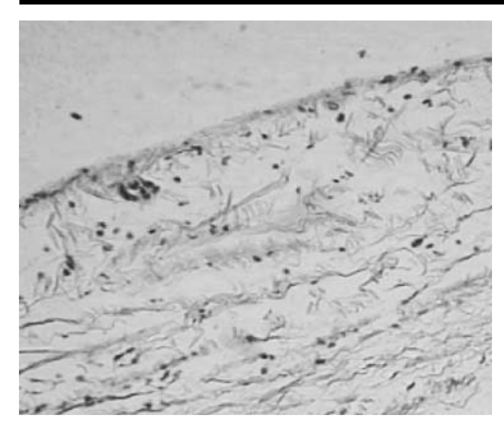


Рис. 4. Ок. 10; Об. 10. Окраска по Хейлу. Группа 3. Слизистая мочевого пузыря

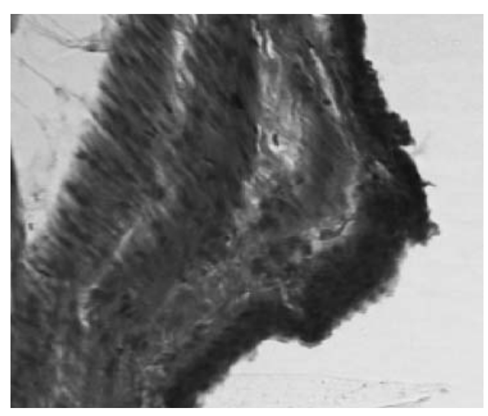


Рис. 5. Ок. 10; Об. 10. ШИК- реакция. Группа 2. Слизистая мочевого пузыря

зах мочевого пузыря крыс 1-3 групп была положительной. Наибольшая интенсивность окрашивания отмечена на срезах мочевого пузыря, полученных от животных 2 группы.

Морфометрический анализ срезов стенки мочевого пузыря у животных опытных и контрольной группы выявил определенные различия по ряду анализируемых показателей.

Из представленной таблицы видно, что степень повреждения структур мочевого пузыря значительно выше в контрольной группе крыс, не получавших препарат гликозаминогликанов. Морфометрические показатели мочевых пузырей животных всех групп наряду с результатами гистохимического анализа срезов позволяют заключить о присутствии воспалительной реакции. У крыс опытных групп наряду с признаками цистита установлены также факторы, указывающие на активизацию регенеративных процессов и накопление гликозаминогликанов в слизистой оболочке мочевого пузыря. Такими факторами являются интенсивная гистохимическая реакция при окрашивании срезов методом Хейла, изменение объема и ЯЦО клеток переходного эпителия мочевого пузыря животных опытных групп. У крыс контрольной группы после введения кислоты в мочевой пузырь воспалительная реакция развивалась значительно быстрее, чем в опытных группах. Характер повреждений слизистой мочевого пузыря у этих животных отличался большей интенсивностью, вплоть до разрушения слизистой оболочки.

Выводы

Применение препарата гликозаминогликанов оказывает защитный эффект на слизистую оболочку мочевого пузыря крыс против повреждающего действия ук-

Таблица 1

Морфометрический анализ мочевого пузыря

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Толщина слизистой оболочки, мм:	0,022±0,003	0,032±0,007**	0,023±0,006
Толщина подслизистой основы, мм:	0,019±0,004	0,018±0,003	0,026±0,005**
Толщина мышечной оболочки, мм:	0,363±0,044*	0,406±0,045	0,410±0,022
Объем ядер клеток переходного эпителия, мкм^3:	252,579±48,840***	146,474±81,508***	48,274±30,975
Объем цитоплазмы клеток переходного эпителия, мкм^3:	893,872±458,479***	389,835±208,962**	234,722±193,357
ЯЦО[1] клеток эпителия	0,673±0,134***	0,599±0,168***	0,292±0,092
Удельная площадь клеток переходного эпителия, мм^2/мм^2	6,755±2,146	6,997±2,135	-

ЯЦО - Ядерно-цитоплазматическое отношение; ***- $p<0,001$; **-$p<0,01$; *- $p<0,05$

сусной кислоты.

Прием препарата гликозаминогликанов приводит к увеличению их содержания в слизистой оболочке мочевого пузыря.

Для гистохимического анализа срезов мочевого пузыря на гликозаминогликаны установлена информативность применения ШИК - реакции и окраски по Хейлу.

SUMMARY

Cystitis on the domestic animals is often treated with exogenous glycosaminoglycans such as heparin, chondroitine sulphate, or the N-acethyl glycosamine (Furinaid®, TRM). The mechanism of action is presumed to be due to a coating of the bladder surface to replace the normally present chondroitine sulphate and glycosamine lost as a result of the disease. This study used experimental damage of the bladder at rats, with an injection vinegar acid. As a result was revealed a protective effect of glycosaminoglicans for chemical cystitis. Was observed best hystochemical determination of glycosaminoglicans in bladder mucous with using a special methods.

Литература

1. Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю. Практическая морфометрия органов и тканей: Для врачей патологоанатомов.- Томск: Изд-во Том. ун-та, 1988.- 136с.
2. Малашко В.В. Гистологические и морфометрические методы исследования/ Белорус. С.-х. акад. – Горки, 1993.- 24 с.
3. Grist M, Chakraborty J: Identification of a mucin layer in the urinary bladder. Urology 1994, 44, P.26-33.
4. Hurst RE, Rhodes SW, Adamson PB, Parsons CL, Roy JB: Functional and structural characteristics of the glycosaminoglycans of the bladder luminal surface. J Urol 1987, 138, P.433-437.
5. Hurst RE, Zebrowski R: Identification of proteoglycans present at high density on bovine and human bladder luminal surface. J Urol 1994, 152, P.1641-1645.
6. Hurst RE, Roy JB, Parsons CL: The role of glycosaminoglycans in normal bladder physiology and the pathophysiology of interstitial cystitis. In Interstitial Cystitis Edited by: Sant GR. Philadelphia, Lippincott-Raven; 1997, P.93-100.
7. Kimberly D Kyker, Jean Coffman and Robert E Hurst. Exogenous glycosaminoglycans coat damaged bladder surfaces in experimentally damaged mouse bladder. BMC Urology 2005, 5:4 doi:10.1186/1471-2490-5-4
8. Merete Holm-Bentzen, Thorkil Ammitzbøll , Tage Hald. Glycosaminoglycans on the surface of the human urothelium: A preliminary report Neurourology and Urodynamics .1986, 5 :6 , P.519 - 523
9. Nickel JC, Cornish J: Ultrastructural study of an antibody-stabilized bladder surface: a new perspective on the elusive glycosaminoglycan layer. World J Urol 1994, 12, P.11-14.
10. Parsons CL, Housley T, Schmidt JD, Lebow D: Treatment of interstitial cystitis with intravesical heparin. Br J Urol 1994, 73, P.504-507.
11. Parsons CL, Stauffer C, and Schmidt JD. Bladder-surface glycosaminoglycans: an efficient mechanism of environmental adaptation. Science, Vol 208, Issue 4444, P. 605-607
12. Steinhoff G, Ittah B, Rowan S: The efficacy of chondroitin sulfate 0.2% in treating interstitial cystitis. Can J Urol 2002, 9, P.1454-1458.
13. Theoharides TC, Vakali S, Kempuraj D, Sant R. A retrospective open label study of CystoProtek in Painful Bladder Syndrome/Interstitial Cystitis (PBS/IC) Proceedings NIDDK International Symposium: Frontiers in Painful Bladder Syndrome and Interstitial Cystitis (October 24-27, 2006; Bethesda, MD).
14. Theoharides TC, Sant GR. A pilot open label study of CystoProtek in Interstitial Cystitis. International Journal of Immunopathology and Pharmacology, vol. 18, P. 183-188, 2005.

Контактная информации об авторах для переписки

Соболев Владислав Евгеньевич, ассистент кафедры внутренних болезней животных СПбГАВМ, кандидат ветеринарных наук. Тел. раб. (812) 388-17-18, тел. дом. (812) 554-16-22, тел. моб. +79117152470. 194017, Санкт-Петербург, ул. Рашетова, д. 13., корпус 2, кв. 98. E-mail to: vesob@mail.ru.

УДК: 619:616.98:578.825.1

Е.А. Чичерина, Ш.К. Куляшбекова, А.В. Борисов,
Е.В. Курненкова, М.И. Шульпин
(ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия)

ПРОЯВЛЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ШТАММА MD5 ВИРУСА БОЛЕЗНИ МАРЕКА У ЦЫПЛЯТ

Ключевые слова: болезнь Марека, цыплята, патогенность

Введение

Штаммы вируса болезни Марека (ВБМ) сильно различаются по степени патогенности: от слабопатогенных до высокопатогенных изолятов. Данное свойство легло в основу классификации штаммов